

[Research Note]

ブドウ ‘紫’ と ‘甲州’ の SSR 解析およびアントシアニン分析による比較

後藤 (山本) 奈美¹・沼田美子代¹・島本 敏¹・望岡亮介²・細見彰洋³¹ (独) 酒類総合研究所 〒739-0046 東広島市鏡山 3-7-1² 香川大学農学部附属農場 〒769-2304 香川県さぬき市昭和字谷乙 300-2³ 大阪府環境農林水産総合研究所 〒583-0862 羽曳野市尺度 442**Comparison of ‘Murasaki’ and ‘Koshu’ Grape Cultivars Using Simple Sequence Repeat and Anthocyanin Analysis**Nami GOTO-YAMAMOTO¹, Mineyo NUMATA¹, Toshi SHIMAMOTO¹,
Ryosuke MOCHIOKA², and Akihiro HOSOMI³¹National Research Institute of Brewing, Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0046, Japan²Kagawa University, Faculty of Agriculture, University Farm, Sanuki, Kagawa 769-2304, Japan³Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefectural Government, Shakudo, Habikino, Osaka 583-0862, Japan

It has been said that ‘Murasaki’ is an old native Japanese grape cultivar that is almost extinct, but also, contradictory to this, it has been stated that ‘Murasaki’ is in fact the same cultivar as ‘Koshu’. At present, only one vine of ‘Murasaki’ is preserved in the Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture. This ‘Murasaki’ vine showed the same simple sequence repeat (SSR) profile as ‘Koshu’ for 26 SSR loci. Berry skin of ‘Murasaki’ showed slightly higher malvidin 3-glucoside concentration than that of ‘Koshu’ of the National Research Institute of Brewing in 2006. However, the anthocyanin concentration of ‘Murasaki’ was within the range of that of ‘Koshu’ from different locations, of different years, and probably of different clones. Thus, it appears that the conserved ‘Murasaki’ is the same as, or at least very similar to, ‘Koshu’.

Key words: anthocyanin composition, ‘Koshu’, microsatellite DNA, ‘Murasaki’, SSR

緒言

わが国固有のブドウ品種としては、‘甲州’と‘甲州三尺’が知られているが、このほかに古い文献には「紫葡萄」や「聚楽葡萄」などの名前も残されている。‘紫’について、菊池 (6) は、「小野蘭山の『本草綱目啓蒙』には、京師産の大宮葡萄および緑葡萄、江戸葡萄及び東国産の紫葡萄の名を出してあるが、品種の説明がない。ただし東国の紫葡萄というのは、甲州葡

萄なることに疑うべき余地がない」(原文は旧字・旧かな遣い)と記している。一方、大阪府農林技術センター(現在の大阪府環境農林水産総合研究所、食とみどり技術センター)の研究職員であった小寺(7)は、‘紫’は江戸時代から近畿地方で栽培されており、現在大阪で栽培されている‘甲州’の系統は明治時代に新宿御苑から苗木を配布されたものであることから、両者は異なる品種であると推定した。小寺(7)は、1986年当時栽培されていた‘紫’を調査し、①葉は‘甲州’と同じ3裂葉であるが、樹勢が旺盛で、果

2008年11月18日受理

粒の肥大が小さい、②成熟期は約7日早く、完熟すると果皮は淡紫色で白色の果粉が現れ、糖度はやや高い、③しかし、果房を容器に詰めると山梨産‘甲州’より見劣りし、明らかに異なっている、と記録している。さらに、‘紫’は豊臣秀吉が朝鮮半島に出兵した際、またはその前後に朝鮮半島からもたらされたものではないかと推測した (7)。

‘紫’は現在大阪府環境農林水産総合研究所に保存されている1樹のみが知られていることから、DNAのSSR解析および果皮のアントシアニン分析を行って‘甲州’と比較することとした。

材料と方法

1. 材料

‘紫’は大阪府環境農林水産総合研究所・食とみどり技術センターでポット栽培、‘甲州’は酒類総合研究所で垣根栽培されている樹を用いた。SSR解析に使用するDNAは、新葉からCsCl超遠心法(12)で精製した。果皮のアントシアニン分析に使用した果実は、‘紫’は2006年、‘甲州’は2006年および2007年に採取した。また、「甲龍」と呼ばれる‘甲州’の古木を穂木とする垣根仕立ての‘甲州’の果実(大和葡萄酒(株)萩原氏から2007年に供与)は、比較的着色が良

いとされることから、アントシアニン分析に使用した。

2. SSR解析

VVS1、VVS2、VVS4 (11)、VVMD5、VVMD6、VVMD7、VVMD8 (1)、VVMD27、VVMD28、VVMD31、VVMD32 (2)、VrZAG21、VrZAG47、VrZAG62、VrZAG64、VrZAG79、VrZAG83 (10)、VMC2a1、VMC2b1.1、VMC2g2、VMC2a3、VMC2b3、VMC2c3、VMC2h4、VMC2a5、およびVMC2g6 (4) の26のSSR遺伝子座について解析した。PCRおよびフラグメントの検出方法は前報(4)と同様、蛍光ラベルしたプライマーを用いてPCRを行い、ABI社製キャピラリーシーケンサーでフラグメントを検出した。

3. アントシアニン分析

凍結果皮を粉砕し、70%メタノール-2%ギ酸で抽出してHPLCで分析し、マルビジン3-グルコシドとして定量した(8)。アントシアニン3-グルコシドの各ピークは標品と比較して同定した。アセチル化およびp-クマル化アントシアニンはその溶出位置およびピークの大きさから判断して同定し、アセチル化およびp-クマル化アントシアニンそれぞれの総量として表示した。

結果と考察

Table 1 SSR profiles of ‘Murasaki’ and ‘Koshu’.

	VVS1		VVS2 ^a		VVS4		VVMD5 ^c		VVMD6		VVMD7 ^e	
Murasaki	188	192	123	131	174	193	233	233	205	207	241	249
Koshu	188	192	123	131	174	193	233	233	205	207	241	249
	VVMD8		VVMD27 ^d		VVMD28		VVMD31		VVMD32			
Murasaki	129	136	178	182	228	241	210	214	240	254		
Koshu	129	136	178	182	228	241	210	214	240	254		
	VrZAG21 ^b		VrZAG47 ^b		VrZAG62 ^d		VrZAG64 ^b		VrZAG79 ^d		VrZAG83 ^b	
Murasaki	193	204	158	162	187	195	137	137	240	248	158	195
Koshu	193	204	158	162	187	195	137	137	240	248	158	195
	VMC2a1 ^x		VMC2b1.1 ^x		VMC2g2 ^x		VMC2a3 ^x		VMC2b3 ^x			
Murasaki	149	149	88	99	125	125	152	159	164	176		
Koshu	149	149	88	99	125	125	152	159	164	176		
	VMC2c3 ^x		VMC2h4 ^x		VMC2a5 ^x		VMC2g6 ^x					
Murasaki	161	190	201	213	149	149	124	127				
Koshu	161	190	201	213	149	149	124	127				

^aSSR data of ‘Koshu’ were reported in (5). ^bSSR data of ‘Koshu’ were reported in (5) after adjustment to a previous study. ^cSSR data of ‘Koshu’ were used in (4). Data in bold indicate small peaks.

両サンプルの 26 の SSR 遺伝子座の解析結果 (Table 1) はすべて一致した。

2006 年の果皮のアントシアニン含量 (総量) は、‘紫’ のほうが酒類総合研究所の ‘甲州’ よりやや高く、マルビジン 3-グルコシドの割合がやや高かった。しかし、2007 年の酒類総合研究所の ‘甲州’ および ‘甲龍’ の穂木を垣根仕立てにした果実は、いずれも 2006 年の ‘紫’ よりアントシアニン含量が高く (Fig. 1)、‘紫’ のアントシアニン含量は ‘甲州’ のその範囲内にあることが示された。アントシアニン組成については、‘紫’ はアシル化アントシアニン、特に *p*-クマル化したアントシアニンの割合がやや高かったが、アシル化していないアントシアニンの組成は ‘甲州’ と類似していた。

供試したブドウ果実の外観、および DNA 抽出に用いた新梢には大きな違いは認められなかった (Fig. 2)。

これらの結果から、① ‘紫’ と ‘甲州’ は同じ品種であると考えることが可能である。小寺 (7) は、‘紫’

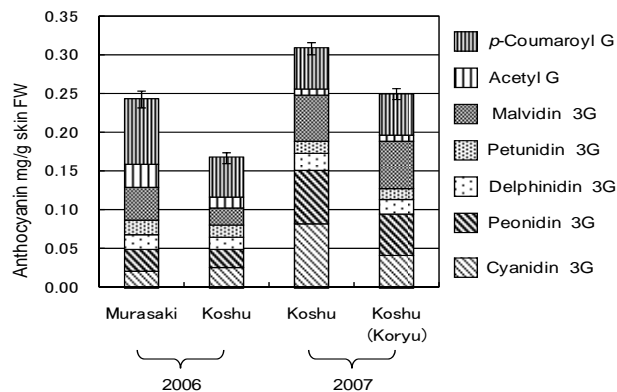


Fig. 1 Anthocyanin composition of the berry skin of ‘Murasaki’ and ‘Koshu’.

G, glucoside. *p*-Coumaroyl G and acetyl G indicate the total concentration of anthocyanin *p*-coumaroyl-glucosides and anthocyanin acetyl-glucosides, respectively. Anthocyanin concentration was determined using malvidin 3-glucoside as the standard. Koryu is a clone derived from an over 100-year-old vine of ‘Koshu’.

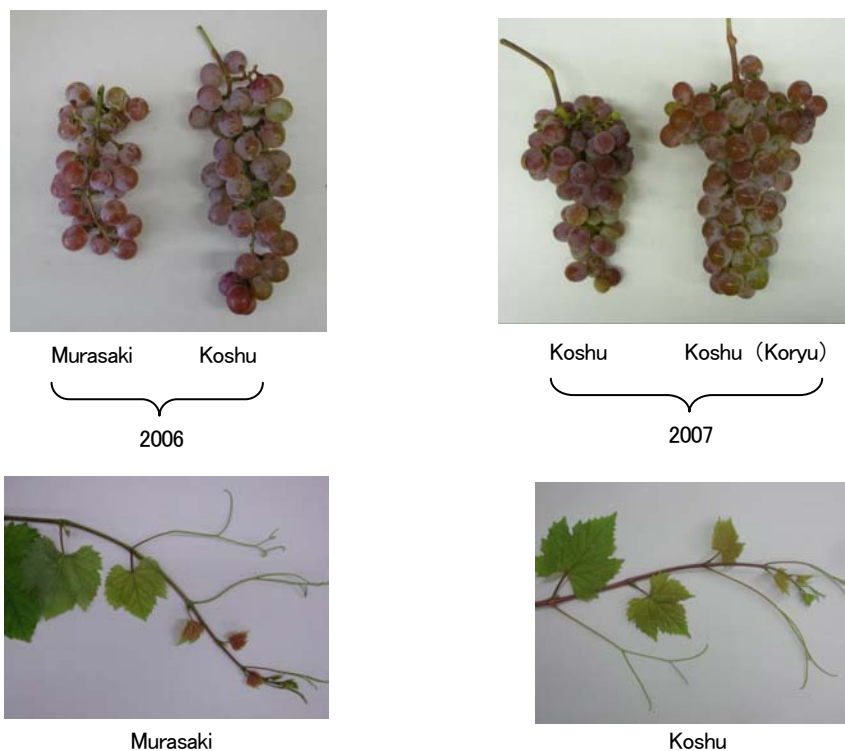


Fig. 2 Samples of grape bunches for anthocyanin analysis (upper) and shoots for DNA extraction.

と‘甲州’が異なることの根拠の1つとして、‘甲州’は明治時代になるまでは山梨県(当時は甲斐国)からの持ち出しは厳禁されていたことをあげている。しかし、元禄時代に書かれた「本朝食鑑(1695)」や「農業全書(1696)」には、駿河、八王子、京洛外にも‘甲州’の栽培が広がったことが記されており(9)、また、山形県でも240年ほど前に江戸から‘甲州’が伝わったとされている(3)。従って、江戸時代にも他の地方への‘甲州’の持ち出しが皆無ではなかったと考えられる。また、小寺(7)は、‘紫’は‘甲州’よりも着色が強いと報告しているが、日照や施肥、水分などの栽培環境によって着色はある程度異なることが知られている。②しかし、筆者の一人、細見は‘紫’は‘甲州’と同じ栽培条件であっても着色がよいことを観察している。この違いがクローンレベルか品種レベルかは別にして、遺伝的に着色の良い系統であるとも考えられる。③さらに、‘紫’と‘甲州’は異なる品種であったが、混在して栽培されていたため、今回分析した‘紫’は、‘甲州’が誤って保存されたものである、という可能性も否定できない。筆者の一人、望岡は約20年前に‘紫’のブドウ果実を見たことがあるが、今回供試したものよりも果粒が小さく、色が濃かったと記憶している。この場合、‘紫’は失われてしまった可能性が高いと考えられる。

どの可能性が高いかの判断は難しいが、今回の検討によって、少なくとも現在保存されている‘紫’は‘甲州’と同じ、または非常に近い品種であることが示されたといえる。

要 約

近畿地域では江戸時代から‘紫’と呼ばれるブドウが栽培されていたが、現在は1樹が保存されているのみである。‘紫’は‘甲州’と同じ品種であるという説がある一方、‘甲州’とは異なるという報告もある。そこで、両者のDNAのSSR解析、および果皮のアントシアニン分析を行って比較した。その結果、SSR解析では供試した26遺伝子座すべてで一致する結果を示した。また、アントシアニン含量および組成も‘紫’は‘甲州’の範囲内にあることが示された。果房や新梢の形態にも大きな違いは認められなかったことから、少なくとも、現在保存されている‘紫’は‘甲

州’と同じ、または非常に近い品種であることが示された。

謝 辞

本研究のきっかけとなる話を伺った甲州市教育委員会室伏徹氏、ブドウサンプルをご供与いただいた大和葡萄酒(株)萩原保樹氏に深謝致します。

文 献

1. Bowers, J. E., G. S. Dangl, R. Vignani, and C.P. Meredith. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). Genome 39: 628-633 (1996).
2. Bowers, J. E., G. S. Dangl, and C. P. Meredith. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. Am. J. Enol. Vitic. 50: 243-246 (1999).
3. 江頭宏昌. 山形県の在来作物に関する研究. J. ASEV Jpn. 19: 98-99 (2008).
4. Goto-Yamamoto, N., H. Mouri, M. Azumi, and K. J. Edwards. Development of grape microsatellite markers and microsatellite analysis including oriental cultivars. Am. J. Enol. Vitic. 57: 105-108 (2006).
5. Goto-Yamamoto, N., M. Numata, G. H. Wan, T. Shimamoto, and K. Hashizume. Characterization of oriental cultivars of grapevine using a reference allele system of microsatellite data and assignment test. J. Japan. Soc. Hort. Sci. (印刷中).
6. 菊池秋雄. 「果樹園芸学(上巻)」第11章 葡萄、第4節 我が国に於ける栽培沿革及び現状. p.300-312、養賢堂(1948).
7. 小寺正史. 「大阪府におけるブドウ栽培の歴史的変遷に関する研究」大阪府立大学学位論文(1986).
8. Mori, K., N. Goto-Yamamoto, M. Kitayama, and K. Hashizume. Effect of high temperature on anthocyanin composition and transcription of flavonoid hydroxylase genes in ‘Pinot noir’ grapes (*Vitis vinifera*). J. Hort. Sci. Biotechnol. 82: 199-206 (2007).
9. 中川昌一. 「日本ブドウ学」(中川昌一監修・堀内昭作・松井弘之編集)第1章起源・来歴および栽培・品種の歴史、第1節 起源と来歴 pp.1-25. 養

賢堂. 東京 (1996) .

10. Sefc, K. M., F. Regner, E. Turetschek, J. Glössl, and H. Steinkellner. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome* 42: 367-373 (1999).
11. Thomas, M. R., and N. S. Scott. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analyzed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.* 86: 985-990 (1993).
12. Yamamoto, N., G. Ono, K. Takashima, and A. Totsuka. Restriction fragment length polymorphisms of grapevine DNA with phenylalanine ammonia-lyase cDNA. *Japan. J. Breed.* 41: 365-368 (1991).